# 果蝇嗅觉分子机理研究进展

吴仲南[1]，邹志华[2]，杜永均[1,*]

(1. 温州医学院健康与环境生态研究所,浙江温州 325035; 2. Department of Neuroscience and Cell Biology, University of Texas Medical Branch, 301 University Blvd., Galveston, TX 77555-0620, USA)

**摘要**：黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 是生物学研究的重要模式生物,也是探索研究生物体嗅觉奥秘的理想材料。近年来，由于分子生物学技术在神经科学领域的广泛应用，黑腹果蝇嗅觉机理研究取得了许多重大突破，对气味分子受体及其识别机理、嗅觉神经电信号的产生和传递、嗅觉信息的加工、编码以及记忆等方面都有了深入的了解。研究表明，果蝇约 1 300 个嗅神经元(olfactory receptor neurons, ORNs)共表达 62 种不同的气味受体蛋白(olfactory receptor proteins, ORs)，用以检测和识别其所感受的所有化学气味分子。许多 OR 所识别的气味分子配体已鉴定出来，普通的气味(如水果的气味)由数种不同的 OR 组合来识别，而信息素(pheromone)分子则由单种特定的 OR 来检测。气味信息在嗅神经元内转换成神经电信号，嗅觉电信号沿嗅神经元的轴突传递到触角叶，再经投射神经元(projection neurons, PNs)将信息送至高级中枢如蘑菇体(mushroom body, MB)和侧角(lateral horn, LH)，最终引发行为反应。在黑腹果蝇嗅觉信息传递通路中，某些蛋白如 Dock, N-cadherin, Fruitless 等起着重要作用，缺失这些蛋白会导致嗅觉异常。本文对这些研究进展作一综述。

**关键词**：果蝇；嗅觉机理；嗅觉编码；嗅觉相关蛋白；嗅觉受体

**中图分类号**：Q966　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2009)07-0799-09

## Progress in molecular mechanism of olfaction in *Drosophila melanogaster*

WU Zhong-Nan[1], ZOU Zhi-Hua[2], DU Yong-Jun[1,*] (1. Institute of Health & Environment, Wenzhou Medical College, Wenzhou, Zhejiang 325035, China; 2. Department of Neuroscience and Cell Biology, University of Texas Medical Branch, 301 University Blvd., Galveston, TX 77555-0620, USA)

**Abstract**: *Drosophila melanogaster* is one of the most popular animal models for biological research, especially for studies on olfaction. Recent advancement in *Drosophila* olfactory research uncovered much about the mechanisms underlying odor detection and discrimination, sensory transduction, coding, olfactory memory, *etc*. It showed that ~1 300 *Drosophila* olfactory receptor neurons (ORNs) express a total of 62 different olfactory receptor proteins (ORs) to detect all chemical molecules a fly senses. The odorant ligands of many *Drosophila* ORs have been elucidated: General odors, such as fruit odors, are encoded by combinations of different ORs; whereas pheromones that elicit mating and social interactions are encoded by single specific OR. Odor information is transformed into electrical neural signal in ORN, then the signal is relayed to the antennal lobe (AL) along the axon of ORN, and further the signal is relayed to the mushroom body (MB) and lateral horn (LH) by the projection neurons (PNs). Some proteins such as Dock, N-cadherin, and Fruitless play crucial roles in the physiology of *Drosophila* olfaction; loss of these proteins will lead to olfactory deficiencies. In this article we reviewed the major progress made in recent years.

**Key words**: *Drosophila*; olfactory mechanism; olfactory coding; olfactory related protein; olfactory receptor

黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* (Diptera, Drosophilidae) 是重要的模式生物，它与其他许多果实蝇特别是检疫性实蝇一起是重要的果蔬害虫，在自然界中广泛存在，杂食性，转主危害频繁。果蝇通过分布在体表的嗅觉和味觉感器获取环境中的化学信息，进而调控其觅食、聚集、求偶和寻找适当产卵场所等行为，在远距离和较短范围内，嗅觉在其中起着重要作用。食物或寄主植物气味引诱果蝇成虫取食及雌成虫产卵，雌雄成虫都能释放一些化合物引诱个体聚集，雌性果蝇还释放性信息素引

基金项目：浙江省重大专项(2007C12078)；温州市 2007 年重大项目(N20070020)

作者简介：吴仲南，女，1981 年 10 月生，浙江东阳人，硕士，从事昆虫嗅觉机理研究，E-mail: wzn@wzmc.net

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: dyj@wzmc.net

收稿日期 Received: 2009-01-20; 接受日期 Accepted: 2009-05-07

诱雄成虫。这些不同源的挥发性化合物的嗅觉调控作用帮助果蝇完成整个生活史中的各个行为，如寄主定位、寻找寄主、寻找合适的休息场所、逃避天敌侵袭以及繁衍后代等。例如，性信息素顺 11-十八碳烯乙酸酯(cVA)先是在雄性的生殖器中产生，后转移至雌性中，由雌性释放出来，感觉到这种化合物的果蝇会产生聚集行为(Hubert, 2004)；而存在于雌蝇表皮的非挥发性碳水化合物性信息素，如顺,顺-5,27-三十三碳二烯，则影响雄蝇求爱行为(Doi *et al.*, 1997)。

如上所述，果蝇嗅觉系统调控一系列复杂的行为反应，而且相对脊椎动物，果蝇有较为简单的中枢神经系统、嗅觉反应的生理学和行为学、清晰的遗传和分子背景，使得果蝇成为研究嗅觉神经机理的极好材料。近几年许多嗅觉神经科学研究中的重大突破都从果蝇中发现，国内一些实验室也正在开展这一领域的研究工作(王桂荣等, 2001; Xiu *et al.*, 2008; 钟国华等, 2008)，但有关综述并不多，主要集中在嗅觉受体及其基因表达上(巩中军等, 2008; 乔奇等, 2008)。本文结合我们的研究工作，就近几年来在果蝇嗅觉神经信号传递、嗅觉蛋白及气味编码的研究进展作一综述。

## 1 嗅觉感受器

果蝇嗅觉感受器的分布因虫态而异，在成虫中分布在触角(antenna)和下颚须(maxillary palp)上(图 1)，而在幼虫中则分布于触角-下颚复合体中。果蝇的味觉感器则分布在身体的各个部位，如唇、咽、足、翅缘以及雌虫性器官上。触角和下颚须表面分布有大量状如毛发的化感器(sensilla)，嗅神经元(olfactory receptor neurons, ORNs)的胞体则位于每个化感器的基部。与其他生物一样，果蝇的嗅神经元也是双极神经元，树突伸入化感器鞘中并分散成许多纤毛露于体表，单根轴突在每个化感器的基部形成后与其他嗅神经元的轴突一起将嗅觉信号送至中枢的第一站触角叶(antennal lobe, AL)。

果蝇成虫触角的鞭节上有约 500 个化感器，包括毛型感器(trichoid)、锥型感器(basiconic)和腔锥型感器(coeloconic)3 种类型，其中毛型感器有 150 个、锥型感器约有 200 个、腔锥型感器有 60 个(图 1)。触角上的每个化感器含 2 ~ 4 个嗅神经元，因此触角中共有约 1 200 个嗅神经元。这些化感器以固有的、双面对称形式分布，大的锥型感器较多聚集于触角的内后部位，毛型感器较多聚集于末端侧部边缘，小的锥型感器和腔锥型感器则散布于触角的中间区域(图 1)。雄蝇的毛型感器比雌蝇多大约 20%，但锥型感器比雌蝇少了大约 30%。化感器根据形态和生理功能特点进一步分类(Shanbhag *et al.*, 1999; de Bruyne *et al.*, 2001)，如触角锥型感器包含 3 个大的，3 个细的和 4 个小的感器，分别被命为 ab1 – 3，ab4 – 6，ab7 – 10，触角毛型感器包含 at1 – 4，下颚须中的锥形感器包含 pb1 – 3。

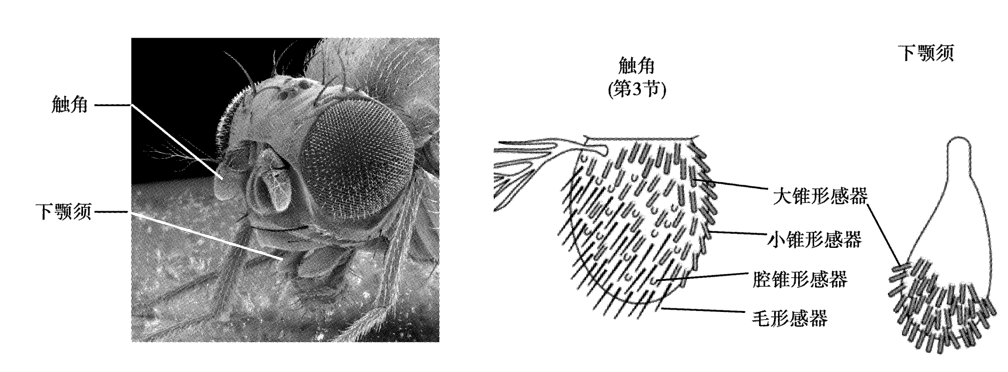



图 1 果蝇的嗅觉感受器官的位置和各类化感器示意图

Fig. 1 The diagram of olfactory organs and chemical sensilla in *Drosophila melanogaster*

嗅觉器官 Two olfactory organs：触角(第 3 节)和下颚须 The third antennal segment and the maxillary palp. 各类化感器 Olfactory organs：大椎形感器 Large basiconica sensilla；小椎形感器 Small basiconica sensilla；腔椎形感器 Coeloconica sensilla；毛形感器 Trichodea sensilla.

果蝇成虫下颚须中只有锥型感器，共约 60 个(Stocker, 1994)(图 1)。每个锥形感器含两个嗅神经元，下颚须中共有大约 120 个嗅神经元。与触角上的化感器不同，雌雄性果蝇下颚须上化感器的数目和形态都没有区别。触角和下颚须的嗅神经元的轴突各自沿不同的途径进入触角叶。

环境中的气味通过化感器上的微孔进入神经元四周的淋巴液中，进而到达神经细胞树突膜，刺激嗅觉神经，产生动作电位，最后传入中枢神经系统，引起相应的行为反应。嗅觉信号的终止依赖于一类选择进化出来的酶，它可以迅速降解气味分子从而终止气味信号的持续刺激(Vogt, 2005)。

## 2 嗅觉机制

### 2.1 嗅觉相关蛋白

**2.1.1** 气味结合蛋白(olfactory binding protein, OBP):OBP 是水溶性、在感受器淋巴液中高度表达的一类蛋白，这些分泌蛋白大都含有大量保守的半胱氨酸残基，目前认为主要起运输疏水性气味分子到达受体的载体作用。OBP 根据所识别的气味分子不同可以分为信息素结合蛋白(PBP)和普通气味结合蛋白(GOBP)。果蝇基因组中至少含有 35 个 OBP 基因，有些报道有 50 个(Vogt, 2005)，可以与气味受体基因的数量相比。目前，OBP 的一级序列和三维结构已经被鉴定，并提出了其结合机制(Wojtasek and Leal, 1999; Kruse *et al.*, 2003)。果蝇单个感器中可表达一个以上 OBP，即使感器中只有一个 ORN，如 T-1 亚型。Shanbhag 等(2005)用包埋后免疫细胞组化方法研究了 OBP 在果蝇中的定位，发现果蝇中的 3 个 OBPs(LUSH = OBP76a, OS-E = OBP83b 和 OS-F = OBP83a)在所有毛型感器中(T-1, T-2 和 T-3)共表达，而在中间型感器(sensilla intermedia)中只有 OS-E 和 OS-F 共表达，LUSH 在其中则无表达。而且发现 LUSH 只在毛原细胞(trichogen)和鞘原细胞(thecogen)细胞中合成和分泌，而不在膜原细胞(tormogen)和感器的 ORN 中合成。关于 OBP 的功能在果蝇中研究较少，很多研究都在蛾类昆虫中进行。黑腹果蝇的 LUSH (OBP76a)是果蝇中第一个功能明确的气味结合蛋白。LUSH 不仅是一个简单的气味分子传输者，还可以调节气味分子与神经元的相互作用，可能直接与受体蛋白相互作用或同气味分子一起激活受体蛋白，LUSH 在果蝇对性信息素 cVA 的反应中起作用，Lush-突变体果蝇对 cVA 没有显示电生理和行为反应(如聚集行为)(Xu *et al.*, 2005)。

目前普遍认为 OBP 具有溶解脂溶性气味物质穿过具亲水性的淋巴液到达嗅觉神经树突末梢的作用(Vogt *et al.*, 1985)，然而直接证据很少，特别是作为载体功能特异性的证据几乎没有(van den Berg and Ziegelberger, 1991)。支持载体功能特异性的证据大部分是通过免疫定位研究得到的非直接证明，即不同的功能感器类型通常有不同的 OBPs (Steinbrecht *et al.*, 1995; Shanbhag *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2001)。直到最近，发现在多音天蚕蛾 *Antheraea polyphemus* 和家蚕 *Bombyx mori* 的毛形感受器中的 PBPs，不仅能够非特异地溶解性信息素，而且也可以作为特异载体。在多音天蚕蛾的毛型感器中共定位的 3 种 PBPs，都会优先结合 3 种信息素中的 1 种(Maida *et al.*, 2000, 2003)。另外也有人认为 OBP 有终止刺激物活性的作用，有关实验目前大部分在蛾类中进行，并表明 OBP 在决定受体活化时程和气味分子失活中起作用。

**2.1.2** 气味受体(olfactory receptor, OR)：OR 的发现是嗅觉研究上的一个重要突破，由此嗅觉神经生物学的研究开始了一个新的分子生物学时代。OR 基因首先于 1991 年在脊椎动物(鼠类)中发现(Buck and Axel, 1991)，之后相继在鱼、蛙和线虫中都发现有类似庞大的 OR 基因家族存在(Ngai *et al.*, 1993; Freitag *et al.*, 1995; Troemel *et al.*, 1995)。研究表明所有生物都可能有大量的基因(约占全部基因的 1% ~5%)用于检测和识别气味分子。绝大多数 OR 基因都高度特异地在嗅神经元中表达，充分表明它们很可能是气味分子受体。不久的研究证明 OR 确实是气味分子受体(Zhao *et al.*, 1998)。尽管多数生物都表达数百种 OR 蛋白，但气味分子的数目还是远远多于 OR 的数目。大多数的气味分子都是由不同的 OR 所形成的组合来识别，不同的 OR 组合用以检测不同的气味分子(Malnic *et al.*, 1999)。因此，有限的 OR 可以组成无数的不同的组合用以检测所有气味分子。

果蝇 OR 基因的发现是在 1999 年(Clyne *et al.*, 1999; Gao *et al.*, 1999)。果蝇有 60 个 OR 基因，散布于整个基因组中，通常以小簇形式分布，其中有两个基因被选择性剪切，因此果蝇共有 62 个 OR (Clyne *et al.*, 1999; Gao and Chess, 1999; Vosshall *et al.*, 1999 ; Robertson *et al.*, 2003)。果蝇 OR 蛋白同源性很差，大部分果蝇 OR 只表现 20% 的同源性，且与哺乳动物的 OR 没有同源性。因此，虽然已鉴定的很多基因都共享一些保守氨基酸残基(Scott *et al.*, 2001)，但 OR 蛋白间的多样性也是显而易见的，由此说明 OR 可能是一个快速进化的基因家族。然而，联系紧密的基因通常会呈现较高的相似度，比如 Or19a 和 Or19b 是果蝇中最相似的两

个气味受体蛋白，差别只在于 3 个氨基酸位点，说明 OR 也可能通过基因复制形成(Robertson *et al.*, 2003)。果蝇的每个 OR 基因都以保守的空间形式表达于触角、下颚须或幼虫背部器官的一小部分嗅神经元中，而 Or83b 是个例外，它在所有嗅觉神经元中都表达(Larsson *et al.*, 2004; Jones *et al.*, 2005)。目前，全部果蝇 OR 的表达部位都已清楚(表 1)，绝大多数果蝇嗅神经元仅表达 1 种特异 OR 和 1 个共用的 OR(Or83b)，少数表达 2 种甚至 3 种特异的 OR(表 2)。Goldman 等(2005)发现 Or33c 和 Or85e 在同一群下颚须嗅神经元中表达，并且从进化上看，这种共表达已经存在了 4 500 万年以上。特异 OR 的表达决定嗅神经元对气味分子的反应特异性，而 Or83b 则不与气味分子反应但对特异 OR 的正常功能却是不可或缺。同一细胞中表达多个气味受体可能为嗅神经元的气味编码提供新的空间。

**表 1 果蝇气味受体蛋白在嗅感觉器官中的表达**

**Table 1 Expression of odor receptor proteins (ORs) in olfactory organs of *Drosophila melanogaster***

| 触角 Antenna | 下颚须 Maxillary | | |
|---|---|---|---|
| 锥形感器 Basiconica sensilla | 毛形感器 Trichodea sensilla | 腔锥形感器 Coeloconica sensilla | 锥形感器 Basiconica sensilla |
| 特异 Specific OR + Or83b<br>特异 Specific OR:<br>Or7a, Or9a, Or10a, Or13a, Or22a, Or22b, Or33a, Or33b, Or42b, Or43b, Or47a, Or49a, Or49b, Or56a, Or59b, Or67a, Or67b, Or67c, Or69aA, Or69aB, Or82a, Or83c, Or85a, Or85b, Or85f, Or92a, Or98a, Or98b, Gr21a, Gr63a | 特异 Specific OR + Or83b<br>特异 Specific OR: Or2a, Or19a, Or19b, Or23a, Or43a, Or47b, Or65a, Or65b, Or65c, Or76d, Or88a | 特异 Specific OR + Or83b<br>特异 Specific OR:<br>Or35a, Or? | 特异 Specific OR + Or83b<br>特异 Specific OR: Or33c, Or42a, Or46aA, Or59c, Or71a, Or85d, Or85e |

**表 2 共表达于同一个嗅神经元中的果蝇的不同气味受体蛋白**

**Table 2 Coexpression of different *Drosophila* odor receptors in one olfactory neuron**

| 器官 Organ | OR1 | OR2 | OR3 |
|---|---|---|---|
| 触角 Antenna | Or10a | Gr10a | |
| 触角 Antenna | Or19a | Or19b | |
| 触角 Antenna | Or22a | Or22b | |
| 触角 Antenna | Or33a | Or56a | |
| 触角 Antenna | Or33b | Or47a | |
| 触角 Antenna | Or33b | Or85a | |
| 触角 Antenna | Or49a | Or85f | |
| 触角 Antenna | Or65a | Or65b | Or65c |
| 触角 Antenna | Or69aA | Or69aB | |
| 触角 Antenna | Or85b | Or98b | |
| 下颚须 Maxillary | Or33c | Or85e | |

多数果蝇 OR 可被数种特异的气味物质激活，而每种气味物质则由不同 OR 形成的 ORs 组合来识别。一般来说，一个典型的 OR，识别少数几种气味化合物，即使其浓度很低，OR 对其反应也是灵敏的，但对除此之外的许多气味化合物则需要较高的浓度，从某种程度上也反映了 OR 的气味结合特异性(Katada *et al.*, 2005; Hallem and Carlson, 2006)。表达于毛型感器嗅神经元中的 OR 被普通气味分子高度抑制或只被微弱激活，但能被特异性信息素高度激活，如 Or67d，能被性信息素 cVA 强烈激活(Ha and Smith, 2006)。果蝇中最早被鉴定的功能性气味受体是 Or43a，最初是通过比较野生型和触角 or43a 基因缺失突变体对气味反应的敏感性差异、在非洲爪蟾卵母细胞中进行异源表达并结合电生理技术鉴定的(Stortkuhl and Kettler, 2001; Wetzel *et al.*, 2001)，并确定了环已酮、环已醇、苯甲醛和苯乙醇是 Or43a 的气味配体。之后，通过 GAL4-UAS 等遗传分析技术，Or22a, Or22b 和 Or43b 的功能也被相继鉴定，且已被定位(mapped)到相应的 ORNs。当 Or22a 缺失突变时，ab3A 神经元会失去对相关气味的感觉反应；而 Or43b 缺失突变时，ab8A 神经元会失去对相关气味的感觉反应(Dobritsa *et al.*, 2003; Elmore *et al.*, 2003)，因此 Or43b 定位到 ab8A 神经元，Or22a 和 Or22b 定位到 ab3A 神经元，Or10a 定位到 ab1D 神经元(Hallem *et al.*, 2004)。研究者认为 OR 足以使各自的 ORN 具备气味反应谱，而且 ORNs 的气味反应的差异性很大一部分是由于它们各自表达的 OR 的气味反应谱的差异。然而，有时，去掉单个特定 OR 的果蝇不会影响其对最适配体气味的反应。例如剔除 Or22a

的果蝇对 1-庚醇的嗅觉反应降低，而对此 OR 较强配体气味酯的反应却无影响，相对于 1-庚醇，Or22a 对酯类的反应有可能可以被其他 OR 补偿（Keller and Vosshall, 2006）。在缺失 Or43b 突变体果蝇中也发现了同样的现象，能激活 Or43b 的不同气味化合物，仍能激活 Or43b 缺失突变体果蝇。这在一定程度上也解释了气味受体突变体为何很难通过遗传筛选分离出来，因为单个气味刺激物常会引起多个受体的反应，而使得单个受体基因的突变不能被通过基于行为反应的分析筛选出来。

**2.1.3** OR 与 ORN 的激活：对 OR 基因及其编码的 7 次跨膜蛋白受体的鉴定，有助于人们理解动物辨别环境中大量的化学气味物质的机制。脊椎动物的 OR 是具有 7 个跨膜域的 G-蛋白偶联受体（GPCR），大部分 OR 蛋白的 7 个跨膜域包含一个保守域 Phe-Pro-X-Cys-Tyr-（X）20-Trp，在这些跨膜域中，横跨第 6 和第 7 跨膜域的保守性最高。当气味分子和 OBP 结合后，被运送到跨膜 OR，并将 OR 激活。激活的 OR 再激活下游的 G 蛋白，后者再激活另一个膜蛋白（腺苷酸环化酶），在细胞质内产生大量环腺苷酸（cAMP）。细胞内 cAMP 浓度的升高将打开膜上一种受环腺苷酸调控的阳离子通道，让钠钙离子进入细胞，使细胞去极化（Reed, 1992）。

果蝇的 OR 虽然同属具有 7 个跨膜域的膜受体蛋白，但却可能不属于 GPCR 大家族的成员。首先，果蝇的 OR 与所有的 GPCR 没有任何同源性；其次，果蝇的 OR 都必须与一个共同的 OR（Or83b）形成二聚体；第三，果蝇的 OR 的穿膜方向与其他 GPCR 相反，即所有 GPCR 都是 N 末端在细胞外，C 末端在细胞质；而果蝇 OR 的 N 末端在细胞质内，C 末端却在细胞外，表明果蝇 OR 的功能与其他生物的 OR 及所有 GPCR 都不一样（Neuhaus *et al.*, 2005；Benton *et al.*, 2006）。据报道，果蝇的嗅觉受体实际上都是由一个特异 OR 和一个共同 OR（Or83b）所形成的一个 OR 二聚体。二聚体中的特异 OR 与气味分子结合并决定嗅神经元的反应特异性。共同的 Or83b 则不与气味分子结合但与特异 OR 形成一个非选择性的阳离子通道。特异 OR 被激活后，OR 二聚体形成的离子通道被激活，让钠钙离子进入细胞，使细胞去极化（Wicher *et al.*, 2008；Sato *et al.*, 2008）。另外，特异 OR 被激活后，也可能激活一种 G 蛋白和腺苷酸环化酶，在细胞质内产生大量环腺苷酸。cAMP 的升高，一方面进一步将神经元去极化，另一方面可通过影响蛋白酶或基因的表达，调节神经元对气味分子反应的灵敏度或终止其反应（图 2）。然而，最近的研究发现，OR 并非直接被激活，而是信息素结合蛋白（LUSH）在构象上的特异性改变激起了神经元的神经活性（Laughlin *et al.*, 2008）。

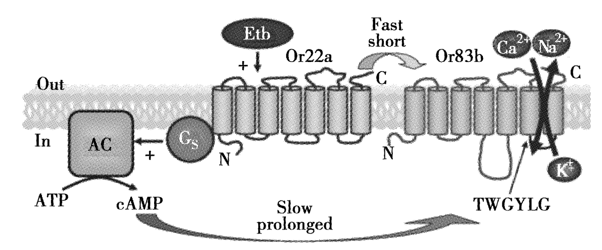



图 2　果蝇嗅神经元中信号转换的机制

Fig. 2　The mechanism of signal transition in *Drosophila* olfactory neurons

气味分子与 OR 二聚体中的特异 OR 结合后将 OR 形成的离子通道打开，使细胞去极化（瞬间反应）；特异 OR 的激活也可通过传统的受体-G 蛋白-腺苷酸环化酶-cAMP 途径将细胞激活（慢途径）（引自 Wicher *et al.*, 2008）。The binding of specific OR and odor molecules leads to a fast and transient ion conductance formed by the OR, and leads to $Na^+$ and $Ca^{2+}$ influx and membrane depolarization; the activation of specific OR can also be slowly finished by the classical receptor-G protein-adenylate cyclase-cAMP (adopted from Wicher *et al.*, 2008).

## 2.2　嗅觉神经体系及对气味的编码

**2.2.1**　嗅觉信号的多级神经传递：果蝇每个触角有约 1 200 个 ORNs，每个下颚须有约 120 个 ORNs（Stocker, 1994；Shanbhag *et al.*, 1999）。ORNs 的轴突投射到果蝇脑部触角叶中的球状单元称为嗅觉小球（glomeruli）内，这种小球在果蝇触角叶中有 43 个。触角叶的功能组织与脊椎动物的嗅球（olfactory bulb）很相似，是传递和处理嗅觉信息的初级中枢。在嗅觉小球中，ORNs 的突触连接到二级神经元，称为投射神经元（projection neurons, PNs）。PNs 的轴突投射到位于蘑菇体（mushroom body, MB）和原脑叶外侧角（lateral horn, LH）等区域的三级神经元（图 3）。最近，Jefferis 等（2007）将单细胞标记（single cell labeling）和图像配准（image registration）相结合，绘制出了果蝇中高清晰、定量的 35 条输入 PN 通道和几组 LH 神经元的 MB 和 LH 图谱。PN 向蘑菇体的输入是一成不变的，类似于原脑叶外侧角；来自不同感器群的 ORNs 相应的 PN 在 LH 中聚集成簇；水果气味大多在后背部 LH（posterior-dorsal LH）中被呈递表征，而候选信息素应答 PN 投射到前腹部 LH（anterior-ventral）；一个 LH 神经元的树突与特定的 PN 轴突子集重叠。这些说明 LH 是根据嗅觉输入的生物学价值进行组织的。

**2.2.2** 多级神经元对气味信息的嗅觉编码：果蝇触角和下颚须中的 ORN 经气味刺激后，产生动作电位。很多 ORNs 的气味反应谱已通过单感器细胞外记录方法被鉴定。不同的气味刺激物引起不同 ORNs 反应；不同的 ORNs，随不同的气味刺激物，显示了诸如兴奋、抑制，强度和时间的动力学特性等不同的反应特征。因此，有人认为各种不同 ORNs 的反应是对气味的最初编码（Clyne *et al.*，1997；de Bruyne *et al.*，1999；Stensmyr *et al.*，2003）。根据 ORNs 对一些特定气味的反应，ORN 可被分为不同的功能性亚类，下颚须中的 ORN 分为 6 类，成对地分布于 pb1，pb2 和 pb3 中，命名为 pb1A 和 pb1B，pb2A 和 pb2B，pb3A 和 pb3B（de Bruyne *et al.*，1999）。pb1A 对乙酸乙酯、异戊基乙酯、反 2-己烯醛等反应明显，而 pb1B 对这几种气味几乎没有反应，但对 4-甲基苯酚、4-丙基苯酚反应明显；pb3B 对 2-庚酮、异戊基乙酯等反应明显，而 pb3A 对这两种气味反应微弱（Goldman *et al.*，2005）。触角锥型感器的 ORNs 可被分为 18 类功能性的 ORNs，成对地分布于 8 类感受器中（de Bruyne *et al.*，2001；Elmore *et al.*，2003）。触角中的腔锥型感器和毛型感器也包含多种 ORNs，具体的鉴定和分类还不清楚。

用 GFP 标记追踪技术对表达特定 OR 的 ORN 的投射情况进行研究，结果显示，表达同一气味受体的 ORNs 的轴突投射到一个或一小部分的嗅觉小球内（Vosshall *et al.*，2000；Bhalerao *et al.*，2003）。不同的气味激活不同的但相互有交叠的一些小球，而且通过电镜成像和代谢标记研究发现，随着气味浓度的增加，被激活的嗅觉小球数量也增加（Nq *et al.*，2002；Fiala *et al.*，2002；Wang *et al.*，2003）。另外，电生理研究表明，PNs 也显示了类似的情况，不同的气味化合物激活不同的 PNs，就像 ORN 的气味反应，PNs 对不同气味的反应在调谐幅度（breadth of tuning），信号模式和反应动态等方面不同（Wilson，2004）。触角和下颚须的约 1 320 个 ORNs 汇聚到约 43 个嗅觉小球内。有学者认为 PN 的活性是完全由它的前突触 ORNs 的活性决定的，PN 活性只是反应了其前突触 ORNs 的活性（Nq *et al.*，2002；Wang *et al.*，2003）。Wilson 等（2004）比较同个小球中 PN 和它的前突触 ORN 的活性，发现不仅 PN 被更广泛的调谐，而且对特定气味化合物的即时动态反应和 ORN 的不同，因此认为 PN 的信息输出不仅受 ORNs 输入信息的影响，也受触角叶中其他侧支联系的影响。

果蝇中更高级神经对气味的反应也有报道，蘑菇体 MB 神经元的钙成像显示不同的气味引起不同的空间活性模式，不同的果蝇个体间的 MB 的空间模式也很不一样（Wang *et al.*，2001；Fiala *et al.*，2002）。虽然还不清楚这种差异性功能的重要性，但基于 MB 在嗅觉学习和记忆中发挥的重要角色，这种差异有可能反映了依赖于经验的可塑（Hallem and Carlson，2004）。对果蝇嗅觉感官刺激（olfacory sensory stimuli）神经系统中高级脑中心的研究解析了果蝇蘑菇体嗅觉呈递图形，触角叶空间图谱（antenna lobe spatial map）可以在蘑菇体萼叶部分进一步转换。并且 Kenyon 细胞（Kenyon cell，KC）树突被隔离成 17 个互补位点（complementary domains），将投射神经元 PN 轴突图形与 KC 树突图形，以及超微观测结果排列在一起是一种位置排序（positional ordering），不同 AL 小球的输入信息在蘑菇体萼叶中不同的 KCs 上形成突触。这些研究结果表明 AL 的嗅觉编码可以在 MB 中解码，并且通过不同的触角叶突出部传递（Lin *et al.*，2007）。

**2.2.3** 多级神经元投递中的信号分子：在果蝇嗅觉信号通路（图 3）中，接头蛋白 Dock 和丝氨酸-苏氨酸激酶 Pak 是两个重要的信号元件，能使 ORN 轴突准确投射到 AL 中的嗅觉小球（Ang *et al.*，2003）。在 Dock 和 Pak 突变体中，ORN 的轴突通入 AL 后，在 AL 中常显示迷路。另外细胞表面蛋白 Dscam（Down syndrome cell adhesion molecule）是另一个调控此过程中的信号分子，在 Dscam 突变体中，下颚须的 ORNs 的轴突常不能到达 AL，而触角 ORNs 的轴突能到达 AL，但指向 AL 中错误的地方（Hummel *et al.*，2003）。Dscam 基因通过选择性剪切可以编码多达 3 800 多个异构体（Schmucker *et al.*，2000），不同组合的异构体可能在不同的 ORNs 群中作用。细胞粘连因子 N-cadherin 在信号的准确投递中也是很重要的，N-cadherin 突变体中，ORNs 轴突能达到 AL 中的合适区域，但与 PN 树突不能有效地衔接（Hummel *et al.*，2004）。缺失 N-cadherin 的 PNs 虽能成功地刺激相关小球，但它们的树突常导致异常地刺激其他邻近小球（Zhu and Luo，2004）。此外，*Fruitless* 基因在部分外周的 ORN 及部分中枢的 AL 二级以及 MB 和 LH 的三级神经元中表达。这些 *Fruitless* 阳性的细胞都是与生殖、交配和性活动有关的，因此 *Fruitless* 的缺失会严重影响果蝇繁殖（Stockinger *et al.*，2005；Kurtovic

*et al.*, 2007；Datta *et al.*, 2008）。



图 3　果蝇嗅觉信息呈递示意图

Fig. 3　The schematic diagram of olfactory signals in *Drosophila* melanogaster

触角小叶 Antenna lobe；蘑菇体 Mushroom body；中央复合体 Central complex.

## 3　结语

近年来，对果蝇嗅觉的研究已取得一定成果，对嗅觉系统的组成和嗅觉的分子机制已有一定了解，但这仅仅是起步，更多问题还有待研究者进一步去探索解决，例如：更深入地剖析神经元之间复杂的信号网络交织；阐明将功能性明确的 ORN 准确投射到 AL 中小球的轴突导向机制（Vosshall and Stocker, 2007）；气味信息在嗅觉系统多级神经元中所代表信号的产生、传递、终止机理；不同的 ORNs 是如何选择性表达各自特异的 OR 基因的，哪些因子参与调控此过程等。相信随着科学技术的发展，这些问题会慢慢被揭示，最终阐明调控昆虫寻偶、交配和产卵等行为的分子机制，为开发更有效、环境友好型的害虫生物防治技术铺路，并且为人类嗅觉的研究奠定坚实的基础，同时也有助于进一步理解人脑的认知机制及其对更深层神经科学（如学习、记忆等）的探索。

### 参 考 文 献（References）

Ang LH, Kim J, Stepensky V, Hing H, 2003. Dock and pak regulate olfactory axon pathfinding in *Drosophila*. *Development*, 130：1 307 –1 316.

Benton R, Sachse S, Michnick SW, Vosshall LB, 2006. Atypical membrane topology and heteromeric function of *Drosophila* odorant receptors *in vivo*. *PLoS Biol.*, 4(2)：240 –257.

Bhalerao S, Sen A, Stocker R, Rodrigues V, 2003. Olfactory neurons expressing identified receptor genes project to subsets of glomeruli within the antennal lobe of *Drosophila melanogaster*. *J. Neurobiol.*, 54：577 –592.

Buck L, Axel R, 1991. A novel multigene family may encode odorant receptors：a molecular basis for odor recognition. *Cell*, 65(1)：175 –187.

Clyne P, Grant A, O'Connell R, Carlson JR, 1997. Odorant response of individual sensilla on the *Drosophila* antenna. *Invert. Neurosci.*, 3：127 –135.

Clyne PJ, Warr CG, Freeman MR, Lessing D, Kim J, Carlson JR, 1999. A novel family of divergent seven-transmembrane proteins：Candidate odorant receptors in *Drosophila*. *Neuron*, 22：327 –338.

Datta SR, Vasconcelos ML, Ruta V, Luo S, Wong A, Demir E, Flores J, Balonze K, Dickson BJ, Axel R, 2008. The *Drosophila* pheromone cVA activates a sexually dimorphic neural circuit. *Nature*, 452(7 186)：473 –477.

de Bruyne M, Clyne PJ, Carlson JR, 1999. Odor coding in a model olfactory organ：the *Drosophila* maxillary palp. *J. Neurosci.*, 19：4 520 –4 532.

de Bruyne M, Foster K, Carlson JR, 2001. Odor coding in the *Drosophila* antenna. *Neuron*, 30：537 –552.

Dobritsa AA, Van der Goes van Naters W, Warr CG, Steinbrecht RA, Carlson JR, 2003. Integrating the molecular and cellular basis of odor coding in the *Drosophila* antenna. *Neuron*, 37：827 –841.

Doi M, Nemoto T, Nakanish H, Kuwahara Y, Oguma Y, 1997. Behavioral response of males to major sex pheromone component, (*Z*, *Z*)-5,25-hentriacontadiene, of *Drosophila ananassae* females. *J. Chem. Ecol.*, 23(8)：2 067 –2 078.

Elmore T, Iqnell R, Carlson JR, Smith DP, 2003. Targeted mutation of a *Drosophila* odor receptor defines receptor requirement in a novel class of sensillum. *J. Neurosci.*, 23：9 906 –9 912.

Fiala A, Spaii T, Dieqelmann S, Eisermann B, Sachse S, *Devaud* JM, Buchner E, Galizia CG, 2002. Genetically expressed cameleon in *Drosophila melanogaster* is used to visualize olfactory information in projection neurons. *Curr. Biol.*, 12：1 877 –1 884.

Freitag J, Krieger J, Strotmann J, Breer H, 1995. Two classes of olfactory receptors in *Xenopus laevis*. *Neuron*, 15(6)：1 383 –1 392.

Gao Q, Chess A, 1999. Identification of candidate *Drosophila* olfactory receptors from genomic DNA sequence. *Genomics*, 60：31 –39.

Goldman AL, Van der Goes van Nters W, Lessing D, Warr CG, Carlson JR, 2005. Coexpression of two functional odor receptors in one neuron. *Neuron*, 45：661 –666.

Gong ZJ, Zhou WW, Zhu ZR, Cheng JA, 2008. Advances in the studies of insect olfactory receptors. *Acta Entomologica Sinica*, 51(7)：761 –768.［巩中军，周文武，祝增荣，程家安，2008. 昆虫嗅觉受体的研究进展. 昆虫学报，51(7)：761 –768］

Ha TS, Smith DP, 2006. A pheromone receptor mediates 11-*cis*-vaccenyl acetate-induced responses in *Drosophila*. *Neurosci.*, 26：8 727 –8 733.

Hallem EA, Carlson JR, 2006. Coding of odors by a receptor repertoire. *Cell*, 125：143 –160.

Hallem EA, Carlson JR, 2004. The odor coding system of *Drosophila*. *Trends in Genetics*, 20(9)：453 –459.

Hallem EA, Ho MG, Carlson JR, 2004. The molecular basis of odor coding in the *Drosophila* antenna. *Cell*, 117: 965 - 979.

Hubert A, 2004. Pheromone perception and behavior in *Drosophila*. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 14: 435 - 442.

Hummel T, Vasconcelos ML, Clemen JC, Fishilevich Y, Vosshall LB, Zipursky SL, 2003. Axonal targeting of olfactory receptor neurons in *Drosophila* is controlled by Dscam. *Neuron*, 37: 221 - 231.

Hummel T, Zipursky SL, 2004. Afferent induction of olfactory glomeruli requires N-cadherin. *Neuron*, 42: 77 - 88.

Jefferis GS, Potter CJ, Chan AM, Marin EC, Rohlfing T, Maurer CR Jr, Luo L, 2007. Comprehensive maps of *Drosophila* higher olfactory centers: Spatially segregated fruit and pheromone representation. *Cell*, 128: 1 187 - 1 203.

Jones WD, Nguyen TA, Kloss B, Lee KJ, Vosshall LB, 2005. Functional conservation of an insect odorant receptor gene across 250 million years of evolution. *Curr. Biol.*, 15(4): R119 - 121.

Katada S, Hirokawa T, Oka Y, Suwa M, Touhara K, 2005. Structural basis for a broad but selective ligand spectrum of a mouse olfacotry receptor: Mapping the odorant-binding site. *J. Neurosci.*, 25(7): 1 806 - 1 815.

Keller A, Vosshall LB, 2006. Influence of odorant receptor repertoire on odor perceptions in humans and fruit flies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104: 5 614 - 5 619.

Kruse SW, Zhao R, Smith DP, Jones DN, 2003. Structure of a specific alcohol-binding site defined by the odorant binding protein LUSH from *Drosophila melanogaster*. *Nat. Struct. Biol.*, 10: 694 - 700.

Kurtovic A, Widmer A, Dickson BJ, 2007. A single class of olfactory neurons mediates behavioural responses to a *Drosophila* sex pheromone. *Nature*, 446: 542 - 546.

Larsson MC, Domingos AI, Jones WD, Chiappe ME, Amrein H, Vosshall LB, 2004. Or83b encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila* olfaction. *Neuron*, 43(5): 703 - 714.

Laughlin JD, Ha TS, Jones DNM, Smith DP, 2008. Activation of pheromone-sensitive neurons is mediated by conformational activation of pheromone-binding protein. *Cell*, 133: 1 255 - 1 265.

Lin HH, Lai JSY, Chin AL, Chen YC, Chiang AS, 2007. A map of olfactory representation in the *Drosophila* mushroom body. *Cell*, 128: 1 205 - 1 217.

Maida R, Krieger J, Gebauer T, Lange U, Ziegelberger G, 2000. Three pheromone-binding proteins in olfactory sensilla of the two silkmoth species *Antheraea polyphemus* and *Antheraea pernyi*. *Eur. J. Biochem.*, 267: 2 899 - 2 908.

Maida R, Ziegelberger G, Kaissling KE, 2003. Ligand binding to six recombinant pheromone-binding proteins of *Antheraea polyphemus* and *Antheraea pernyi*. *J. Comp. Physiol. B*, 173: 565 - 573.

Malnic B, Hirono J, Sato T, Buck LB, 1999. Combinatorial receptor codes for odors. *Cell*, 96(5): 713 - 723.

Neuhaus EM, Gisselmann G, Zhang W, Dooley R, Stortkuhl K, Hatt H, 2005. Odorant receptor heterodimerization in the olfactory system of *Drosophila melanogaster*. *Nat. Neurosci.*, 8(1): 15 - 17.

Ngai J, Dowling MM, Buck L, Axel R, Chess A, 1993. The family of genes encoding odorant receptors in the channel catfish. *Cell*, 72(5): 657 - 666.

Nq M, Roorda RD, Lima SQ, Zemelman BV, Morcillo P, Miesenbock G, 2002. Transmission of olfactory information between three populations of neurons in the antennal lobe of the fly. *Neuron*, 36: 463 - 474.

Qiao Q, Yuan GH, Li HC, Guo XR, Luo MH, 2008. Research advances in odorant receptors in insects. *Acta Entomologica Sinica*, 51(1): 75 - 80. [乔奇, 原国辉, 李海超, 郭线茹, 罗梅浩, 2008. 昆虫气味受体研究进展. 昆虫学报, 51(1):75 - 80]

Reed RR, 1992. Signaling pathways in odorant detection. *Neuron*, 8(2): 205 - 209.

Robertson HM, Warr CG, Carlson JR, 2003. Molecular evolution of the insect chemoreceptor gene superfamily in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100 (Suppl. 2): 14 537 - 14 542.

Sato K, Pellegrino M, Nakagawa T, Vosshall LB, Touhara K, 2008. Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated ion channels. *Nature*, 452: 1 002 - 1 006.

Schmucker D, Clemens JC, Shu H, Worby CA, Xiao J, Muda M, Dixon JE, Zipursky SL, 2000. *Drosophila* Dscam is an axon guidance receptor exhibiting extraordinary molecular diversity. *Cell*, 101: 671 - 684.

Scott K, Brady R Jr, Cravchik A, Morozov P, Rzhetsky A, Zuker C, Axel R, 2001. A chemosensory gene family encoding candidate gustatory and olfactory receptors in *Drosophila*. *Cell*, 104: 661 - 673.

Shanbhag SR, Hekmat-Scafe D, Kim MS, Park SK, Carlson JR, Pikielny C, Smith DP, Steinbrecht RA, 2001. Expression mosaic of odorant-binding proteins in *Drosophila* olfactory organs. *Microscopy Research and Technique*, 55: 297 - 306.

Shanbhag SR, Muller B, Steinbrecht RA, 1999. Atlas of olfactory organs of *Drosophila melanogaster*. 1. Types, external organization, innervation and distribution of olfactory sensilla. *Int. J. Insect Morphol. Embryol.*, 28: 377 - 397.

Shanbhag SR, Smith DP, Steinbrecht RA, 2005. Three odorant-binding proteins are co-expressed in sensilla trichodea of *Drosophila malanogaster*. *Arthropod Structure and Development*, 34: 153 - 165.

Steinbrecht RA, Laue M, Ziegelberger G, 1995. Immunolocalization of pheromone-binding protein and general odorant-binding protein in olfactory sensilla of the silk moths *Antheraea* and *Bombyx*. *Cell and Tissue Research*, 282: 203 - 217.

Stensmyr MC, Giordano E, Balloi A, Angioy AM, Hansson BS, 2003. Novel natural ligands for *Drosophila* olfactory receptor neurones. *J. Exp. Biol.*, 206: 715 - 724.

Stocker RF, 1994. The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*: a review. *Cell Tissue Res.*, 275: 3 - 26.

Stockinger P, Kvitsiani D, Rotkopf S, Tirián L, Dickson BJ, 2005. Neural circuitry that governs *Drosophila* male courtship behavior. *Cell*, 121(5): 795 - 807.

Stortkuhl KF, Kettler R, 2001. Functional analysis of an olfactory receptor in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98: 9 381 - 9 385.

Troemel ER, Chou JH, Dwyer ND, Colbert HA, Bargmann CI, 1995. Divergent seven transmembrane receptors are candidate chemosensory receptors in *C. elegans*. *Cell*, 83(2): 207 – 218.

Van den Berg MJ, Ziegelberger G, 1991. On the function of the pheromone binding protein in the olfactory hairs of *Antheraea polyphemus*. *Journal of Insect Physiology*, 37: 79 – 85.

Vogt RG, 2005. Molecular basis of pheromone detection in insects. In: Gilbert LI, Iatro K, Gill S eds. Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, Pharmacology and Molecular Biology. Vol. 3. Endocrinology. 753 – 804.

Vogt RG, Riddiford LM, Prestwich GD, 1985. Kinetic properties of a sex pheromone-degrading enzyme: the sensillar esterase of *Antheraea polyphemus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82: 8 827 – 8 831.

Vosshall LB, Amrein H, Morozov PS, Rzhetsky A, Axel R, 1999. A spatial map of olfactory receptor expression in the *Drosophila* antenna. *Cell*, 96: 725 – 736.

Vosshall LB, Stocker RF, 2007. Molecular architecture of smell and taste in *Drosophila*. *Annu. Rev. Neurosci.*, 30: 505 – 533.

Vosshall LB, Wong AM, Axel R, 2000. An olfactory sensory map in the fly brain. *Cell*, 102: 147 – 159.

Wang GR, Guo YY, Xu G, Wu KM, 2001. Cloning and sequencing of a gene encoding GOBP2 in the antenna of *Spodoptera exigua*. *Scientia Agricultura Sinica*, 34(6): 619 – 625. [王桂荣，郭予元，徐广，吴孔明，2001. 甜菜夜蛾 GOBP2 基因的克隆及序列测定. 中国农业科学，34(6): 619 – 625]

Wang JW, Wong AM, Flores J, Vosshall LB, Axel R, 2003. Two-photon calcium imaging reveals an odor-evoked map of activity in the fly brain. *Cell*, 112: 271 – 282.

Wang Y, Wright NJ, Guo H, Xie Z, Svodoba K, Malinow R, Smith DP, Zhong Y, 2001. Genetic manipulation of the odor-evoked distributed neural activity in the *Drosophila* mushroom body. *Neuron*, 29: 267 – 276.

Wetzel CH, Behrendt HJ, Gisselmann G, Stortkuhl KF, Hovemann B, Hatt H, 2001. Functional expression and characterization of a *Drosophila* odorant receptor in a heterologous cell system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98: 9 377 – 9 380.

Wicher D, Schäfer R, Bauernfeind R, Stensmyr MC, Heller R, Heinemann SH, Hansson BS, 2008. *Drosophila* odorant receptors are both ligand-gated and cyclic-nucleotide-activated cation channels. *Nature*, 452: 1 007 – 1 011.

Wilson RI, Turner GC, Laurent G, 2004. Transformation of olfactory representations in the *Drosophila* antennal lobe. *Science*, 303: 366 – 370.

Wojtasek H, Leal WS, 1999. Conformational change in the pheromone binding protein from *Bombyx mori* induced by pH and by interaction with membranes. *Journal of Biological Chemistry*, 274: 30 950 – 30 956.

Xiu WM, Zhou YZ, Dong SL, 2008. Molecular characterization and expression pattern of two pheromone-binding proteins from *Spodoptera litura* (Fabricius). *J. Chem. Ecol.*, 34: 487 – 498.

Xu P, Atkinson R, Jones DN, Smith DP, 2005. *Drosophila* OB PLUSH is required for activity of pheromone-sensitive neurons. *Neuron*, 45: 193 – 200.

Zhang S, Maida R, Steinbrecht RA, 2001. Immunolocalization of odorant-binding proteins in noctuid moths (Insecta, Lepidoptera). *Chemical Senses*, 26: 885 – 896.

Zhao H, Ivic L, Otaki JM, Hashimoto M, Mikoshiba K, Firestein S, 1998. Functional expression of a mammalian odorant receptor. *Science*, 279(5 348): 237 – 242.

Zhong GH, Li MM, Hu MY, Luo Q, Ma JL, 2008. Cloning and sequence analysis of *SlitGOBP1* encoding a general odorant binding protein 1 from *Spodoptera litura*. *Journal of South China Agricultural University*, 29(2): 38 – 43. [钟国华，李苗孟，胡美英，罗倩，马金亮，2008. 斜纹夜蛾普通气味结合蛋白基因 *SlitGOBP1* 的克隆及序列分析. 华南农业大学学报，29(2): 38 – 43]

Zhu H, Luo L, 2004. Diverse functions of N-cadherin in dendritic and axonal terminal arborization of olfactory projection neurons. *Neuron*, 42: 63 – 75.

（责任编辑：赵利辉）